酵母硒和苜草素联用对产蛋后期蛋鸡蛋品质、抗氧化能力和胆固醇代谢的影响[1]

杨　玉　孙　煜　孙宝盛　卢营杰　李建慧　张俊珍

（山西农业大学动物科技学院，太谷　030801）

摘　要：本试验旨在研究不同水平酵母硒和苜草素联用对产蛋后期蛋鸡蛋品质、抗氧化能力和胆固醇代谢的影响。试验选取 756 只 69 周龄海兰褐蛋鸡，随机分为 7 组，每组 6 个重复，每个重复 18 只。对照组饲喂基础饲粮，2~7 组在基础饲粮中分别添加 0.2、0.6、1.0 mg/kg 酵母硒与 500、1 000 mg/kg 苜草素。试验预试期 2 周，正试期 8 周。结果表明：1）饲粮添加酵母硒和苜草素可显著提高蛋鸡产蛋率（P<0.05），显著降低料蛋比（P<0.05），有提高鸡蛋蛋壳强度、蛋白高度和哈氏单位的趋势。2）饲粮添加酵母硒和苜草素极显著提高蛋鸡血浆谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px）和总超氧化物歧化酶（T-SOD）活性、肝脏 GSH-Px 活性以及肝脏 *GSH-Px*1、硫氧还蛋白还原酶 1 mRNA 表达量（P<0.01）；极显著降低蛋鸡肝脏甘油三酯含量和 3–羟基－3–甲基戊二酸单酰辅酶 A 还原酶 mRNA 表达量（P<0.01），极显著提高肝脏胆固醇 7α－羟化酶和固醇调节元件结合蛋白－1c mRNA 表达量（P<0.01）；极显著提高蛋黄硒含量（P<0.01）。3）添加 0.6 mg/kg 酵母硒和 1 000 mg/kg 苜草素可极显著提高蛋鸡血浆总抗氧化能力（P<0.01），极显著降低蛋鸡血浆 MDA 含量（P<0.01），极显著降低蛋黄胆固醇和甘油三酯含量以及肝脏胆固醇含量（P<0.01）。综上，饲粮中添加酵母硒和苜草素可提高产蛋后期蛋鸡生产性能、蛋品质、抗氧化能力及脂代谢功能，以 0.6 mg/kg 酵母硒和 1 000 mg/kg 苜草素组合效果最佳。

关键词：酵母硒；苜草素；蛋鸡；蛋品质；抗氧化能力；胆固醇代谢；

中图分类号：S816　　文献标识码：A　　文章编号：

硒是人和动物必需的微量元素，缺硒可导致白肌病、克山病、肝硬化、癌症、白内障、心血管与抑郁症等疾病发生。目前，世界上有 40 多个国家处于低硒或缺硒状态，我国也是严重的缺硒国家之一。由于富硒鸡蛋所含硒为有机态硒，容易被人体吸收利用，在发达国家

收稿日期：2018–04–06

基金项目：山西省科学技术发展计划项目（201603D221033-1）；山西省现代农业鸡产业技术体系(20171102)；山西功能农业共性关键技术研究与示范（201703D211001）；晋中市科技重点研发计划（农业）（201803D01100006）

作者简介：杨　玉(1963—)，女，山西新绛人，教授，博士，主要从事家禽营养研究。E-mail: 345605203@qq.com

已利用富硒酵母作为有机硒源，生产富硒鸡蛋上市。而苜草素兼有抗氧化和免疫增强的双重功效，推测苜草素应该在生长周期长或有严重疾病隐患的情况下应用效果更为理想。王宝维等[1]报道，在鹅饲粮中添加不同硒源均显著提高了血清与肝脏中谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px）、总超氧化物歧化酶（T-SOD）活性和总抗氧化能力（T-AOC），显著降低了血清与肝脏中丙二醛（MDA）和过氧化氢（H_2O_2）含量，且酵母硒比亚硒酸钠和纳米硒的抗氧化作用更为显著。硒源和水平对蛋鸡血液硒含量、GSH-Px 活性和 T-AOC 有显著影响，有机硒较无机硒更易于沉积在鸡蛋、肝脏和肌肉等组织中[2-5]，提高鸡蛋硒含量[6-8]和 GSH-Px 活性[9-10]。苜蓿中的活性物质有增强血清抗氧化能力、降低血清 MDA 含量以及预防心血管疾病等作用。添加不同水平的苜蓿总甙可以增强肉鸡肝脏和血清 GSH-Px 活性，降低肝脏和血清 MDA 含量，使动物机体不被脂质过氧化物伤害[11]。Deng 等[12]研究表明，含水苜蓿提取物能够显著降低血清和肝脏的胆固醇以及蛋黄、血清和肝脏的脂质，但对血清低密度脂蛋白胆固醇（LDL-C）和高密度脂蛋白胆固醇（HDL-C）含量无显著影响。Zhou 等[13]进一步利用数字基因表达分析了苜蓿皂苷提取物降低蛋鸡胆固醇的效果，发现添加 120 mg/kg 苜蓿皂苷提取物效果最好。作者前期研究发现，饲粮中添加苜草素可降低产蛋后期蛋鸡蛋黄总胆固醇和甘油三酯含量，提高生产性能、蛋壳强度、机体抗氧化和胆固醇代谢能力，其适宜添加水平为 1 000 mg/kg[14]。但有机硒与苜草素均兼有抗氧化的功效，但其联和使用是否会在鸡蛋品质、动物抗氧化及脂代谢方面产生更好的效果却鲜有报道。因此，本试验通过在饲粮中添加酵母硒和苜草素，进一步探讨其对产蛋后期蛋鸡生产性能、硒沉积、抗氧化、胆固醇及相关基因表达的影响，旨在确定其适宜添加水平及组合，为提高鸡蛋品质和蛋鸡产业的可持续发展提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验时间和地点

试验于 2015 年 6 月 11 日—2015 年 8 月 21 日在山西省大同市大同县建鑫养殖场和山西农业大学动物遗传育种与动物营养省级重点实验室进行。

1.2 试验材料与设计

试验用苜草素是一种从紫花苜蓿中提取的天然植物提取物，其有效成分为多糖 15%、黄酮 5%和三萜皂苷 5%，购自四川德阳三丰原科技股份有限公司；酵母硒购自奥特奇生物有限公司，硒含量 2 000 mg/kg。试验选用 756 只 69 周龄健康状况良好、产蛋率约 80%的海兰褐蛋鸡，随机分成 7 组，每组 6 个重复，每重复 18 只鸡。其中 1 组为对照组，饲喂基础饲粮（硒含量 0.20 mg/kg），参照海兰公司提供的饲养管理手册（2014）并根据建鑫养殖场实际情况做适当修改进行配制，其组成及营养水平见表 1；2～7 组分别在基础饲粮中添加

0.2、0.6 和 1.0 mg/kg 酵母硒与 500 和 1 000 mg/kg 苜草素。试验设计见表 2。试验预试期 2 周，饲喂基础饲粮；正试期 8 周。

表 1 基础饲粮组成及营养水平（风干基础）

Table 1 Composition and nutrient levels of the basal diet （air-dry basis） %

项目 Items	含量 Content
原料 Ingredients	
玉米 Corn	64.60
豆油 Soybean oil	0.40
豆粕 Soybean meal	23.10
菜籽粕 Rapeseed meal	1.00
磷酸氢钙 $CaHPO_4$	1.29
石粉 Limestone	8.70
食盐 NaCl	0.21
蛋氨酸 Met	0.06
维生素预混料 Vitamin premix[1)]	0.06
维生素 E 粉 Vitamin E powder	0.01
胆碱 Choline	0.15
微量元素预混料 Trace mineral premix[2)]	0.20
小苏打 $NaHCO_3$	0.20
壳红素 Shell red element	0.02
合计 Total	100.00
营养水平 Nutrient levels[3)]	
代谢能 ME/(MJ/kg)	11.29
粗蛋白质 CP	15.92
赖氨酸 Lys	0.71
蛋氨酸 Met	0.31
钙 Ca	3.73
磷 P	0.56
硒 Se/(mg/kg)	0.20

[1)] 维生素预混料为每千克饲粮提供 The vitamin premix provided the following per kg of the diet：VA 33

000 IU，VD_3 8 100 IU，VK 3 mg，VB_1 3 mg，VB_2 15 mg，VB_6 8.4 mg，VB_{12} 0.04 mg，*D*–泛酸钙 *D*-calcium pantothenate 19.2 mg，烟酸 nicotinic acid 54 mg，*D*–生物素 *D*-biotin 0.06 mg。

2）微量元素预混料为每千克饲粮提供 The trace mineral premix provided the following per kg of the diet：Fe (as ferrous sulfate) 100 mg，Cu (as copper sulfate) 10 mg，Zn (as zinc sulfate) 80 mg，Mn 120 mg，I 0.26 mg。

3）计算值。Calculated values.

表 2　试验设计

Table 2　Experiment design

组别 Groups	饲粮 Diets
1	基础饲粮
2	基础饲粮+0.2 mg/kg 酵母硒+500 mg/kg 苜草素
3	基础饲粮+0.2 mg/kg 酵母硒+1 000 mg/kg 苜草素
4	基础饲粮+0.6 mg/kg 酵母硒+500 mg/kg 苜草素
5	基础饲粮+0.6 mg/kg 酵母硒+1 000 mg/kg 苜草素
6	基础饲粮+1.0 mg/kg 酵母硒+500 mg/kg 苜草素
7	基础饲粮+1.0 mg/kg 酵母硒+1 000mg/kg 苜草素

1.3　饲养管理

试验鸡采用立体 3 层笼养，每笼 3 只，鸡只自由采食与饮水，自然光照补充人工光照到 16 h；温度(20±2) ℃，相对湿度 50%~60%，自然通风结合纵向负压通风；其他均按养殖场常规方法进行。

1.4　指标测定

1.4.1　生产性能

试验期间每日记录各重复的产蛋数、产蛋总重量，每 7 d 结料，记录各重复耗料重，计算各组平均日采食量，然后以组为单位统计产蛋率和料蛋比。

1.4.2　蛋品质测定

试验第 14、28、42 和 56 天，每个重复随机抽取 3 枚鸡蛋测定蛋品质。采用多功能蛋品质测定仪（ORKA，以色列）测定蛋重、蛋白高度、哈氏单位和蛋黄颜色，采用蛋壳强度测定仪（ORKA，以色列）测定蛋壳强度，采用蛋壳厚度测定仪（NFN380，日本）测定蛋壳厚度。

1.4.3　血浆及组织相关指标

试验结束时每重复随机选取 1 只健康状况良好且体重接近的蛋鸡，空腹翅静脉采血 5 mL，3 500 r/min 离心 10 min 制备血浆分装，－20 ℃保存。取同一部位肝脏，按照相应试剂盒测定血浆 GSH-Px 和 T-SOD 活性、T-AOC、MDA、胆固醇和甘油三酯含量以及肝脏 GSH-Px 活性、胆固醇和甘油三酯含量，试剂盒购自南京建成生物工程有限公司。

1.4.4　蛋黄相关指标测定

试验结束时，每重复选取 2 枚鸡蛋称重，破壳后分离蛋清蛋黄，使用氢化物发生原子荧光分析方法测定蛋黄硒含量；使用试剂盒测定蛋黄胆固醇和甘油三酯含量，试剂盒购自南京建成生物工程有限公司。

1.4.5　肝脏总 RNA 提取和反转录

对上述采血后的鸡颈静脉放血致死，采用无菌操作迅速取出同一部位肝脏放入液氮中，置于－80 ℃待测。采用 Trizol 法提取肝脏组织总 RNA。用 1%琼脂糖凝胶电泳、核酸蛋白仪测定 RNA 完整性、浓度和纯度。按照反转录试剂盒说明合成 cDNA，－20 ℃保存备用。

1.4.6　引物设计

根据测序数据库中 *GSH-Px*1、胆固醇 7α–羟化酶（*CYP7A*1）、固醇调节元件结合蛋白－1c（*SREBP*-1*c*）、硫氧还蛋白还原酶 1（*TrxR*1）、3–羟基－3–甲基戊二酸单酰辅酶 A 还原酶（*HMGCR*）的序列，设计其引物，由华大基因（北京）合成。

表 3　引物序列

Table 3　Primer sequences

目的基因 Target genes	GenBank 登录号 GenBank accession No.	引物序列 Primers sequences （5’—3’）	产物长度 Product length/bp
谷胱甘肽过氧化物酶 1 *GSH-Px*1	NM_001277853	F:ACGGCGCATCTTCCAAAG R:TGTTCCCCCAACCATTTCTC	73
胆固醇 7α–羟化酶 *CYP7A*1	NM_001001753	F:CCGAGTTGCTAAGGAGGATT R:CGTTGCGGTAGAAGTCAGTC	191
固醇调节元件结合蛋白－1c *SREBP*-1*c*	NM_204126	F:GCCCTCTGTGCCTTTGTCTTC R:ACTCAGCCATGATGCTTCTTCC	130
硫氧还蛋白还原酶 1 *TrxR*1	NM_001030762	F:TACGCCTCTGGGAAATTCGT R:CTTGCAAGGCTTGTCCCAGTA	107
3–羟基－3–甲基戊二酸单酰辅酶 A 还原酶 *HMGCR*	NM_204485	F:CTGCAGGAAACAATCTGGAC R:GCTTTGGTTGATGACTCTGCT	126
β–肌动蛋白 β-actin	X00182	F:TGCGTGACATCAAGGAGAAG R:TGCCAGGGTACATTGTGGTA	300

1.4.7　实时定量 PCR

以合成的 cDNA 为模板，按照 SYBR® Premix Ex Taq™ II试剂盒说明（购自大连 TaKaRa 有限公司），在实时荧光定量 PCR 仪上进行，反应条件为：95 ℃预变性 30 s，95 ℃变性 5 s，

60 ℃退火 34 s，共 45 个循环。溶解曲线分析程序为：95 ℃ 10 s，60 ℃ 1 min，随后温度以每 10 s 0.5 ℃速度上升至 95 ℃。采用相对定量分析法，以β–肌动蛋白（β-actin）作为内参基因，采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目的基因 mRNA 相对表达量。

1.5 数据处理与统计分析

用 SPSS 19.0 统计软件对数据进行分析。所有数据以“平均值±标准差”表示，采用单因素方差分析，用 Duncan 氏法比较各组之间差异，采用 LSD 法对差异显著的数据进行极显著差异比较，对 mRNA 表达量进行单因素方差分析。$P<0.05$ 表示差异显著，$P<0.01$ 表示差异极显著。

2 结 果

2.1 酵母硒和苜草素联用对产蛋后期蛋鸡生产性能的影响

由表 4 可知，各试验组蛋鸡平均蛋重和平均日采食量与对照组比较差异不显著（$P>0.05$）；除 3 组和 6 组蛋鸡产蛋率与对照组差异不显著（$P>0.05$）外，其他各试验组蛋鸡产蛋率均显著高于对照组（$P<0.05$）。各试验组蛋鸡料蛋比均显著低于对照组（$P<0.05$），其中以 5 组产蛋率最高、料蛋比最低。酵母硒和苜草素互作可极显著降低蛋鸡料蛋比（$P<0.01$），有提高蛋鸡产蛋率趋势，但差异不显著（$P>0.05$）。

表 4　酵母硒和苜草素联用对产蛋后期蛋鸡生产性能的影响

Table 4　Effects of combination of selenium yeast and polysavone on performance of hens during late period of laying

项目 Items	组别 Groups							*P* 值（酵母硒×苜草素）
	1	2	3	4	5	6	7	*P*-value (selenium yeast×polysavone)
产蛋率 Laying rate/%	71.27±5.46	76.63±2.41^{b}	75.16±2.14^{ab}	76.02±4.23^{b}	78.87±2.69^{b}	74.22±3.60^{ab}	77.11±2.05^{b}	0.054
平均蛋重 Average egg weight/g	65.88±2.66	65.76±3.81	66.44±5.23	65.51±4.04	65.11±3.25	65.67±2.77	66.68±4.51	0.877
平均日采食量 ADFI/g	119.83±0.49	120.62±0.70	120.63±0.37	120.29±0.75	120.48±0.59	120.61±0.64	120.65±0.36	0.242
料蛋比 Feed/egg	2.685±0.008	2.479±0.004^{b}	2.453±0.004^{c}	2.457±0.006^{c}	2.309±0.010^{f}	2.478±0.004^{b}	2.427±0.007^{d}	<0.001

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著（*P*＜0.05），不同大写字母表示差异极显著（*P*＜0.01），无字母或相同小写字母表示差异不显著（*P*>0.05）。下表同。

In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference （*P*＜0.05）, with different capital letter superscripts mean extremely significant difference （*P*＜0.01）, while with no letter or the same small letter superscripts mean no significant difference （*P*>0.05）. The same as below.

2.2　酵母硒和苜草素联用对产蛋后期蛋鸡蛋品质以及蛋黄硒、胆固醇和甘油三酯含量的影响

由表 5 可知，饲粮中添加酵母硒和苜草素具有提高哈氏单位趋势，其中 4 组哈氏单位显著高于对照组（P<0.05）；2 组、4 组和 5 组的蛋壳强度显著高于对照组（P<0.05）；其余各项蛋品质指标各组差异不显著（P>0.05）。蛋黄硒含量随酵母硒添加量的增加而增加，试验组蛋黄硒含量均极显著高于对照组（P<0.01）；各试验组蛋黄胆固醇和甘油三酯含量均低于对照组，其中 3 组和 5 组蛋黄胆固醇含量极显著低于对照组（P<0.01），3 组、5 组和 7 组蛋黄甘油三酯含量极显著低于对照组（P<0.01）。酵母硒和苜草素互作对蛋品质及蛋黄硒、胆固醇和甘油三酯含量影响不显著（P>0.05）。

表 5　酵母硒和苜草素联用对产蛋后期蛋鸡蛋品质以及蛋黄硒、胆固醇和甘油三酯含量的影响

Table 5　Effects of combination of selenium yeast and polysavone on egg quality and contents of selenium, cholesterol and triglyceride in yolk of hens during late period of laying

项目 Items	组别 Groups							*P* 值（酵母硒×苜草素）*P*-value (selenium yeast× polysavone)
	1	2	3	4	5	6	7	
蛋白高度 Albumen height/mm	4.78±1.39	4.82±0.84	5.19±1.23	4.99±1.37	5.04±2.14	4.82±1.16	5.21±0.98	0.997
哈氏单位 Haugh unit	61.11±14.76[a]	63.10±9.35[ab]	65.50±14.37[ab]	70.17±8.17[b]	67.05±13.01[ab]	62.14±11.91[ab]	66.60±8.51[ab]	0.978
蛋形指数 Egg shape index	1.34±0.07	1.36±0.05	1.36±0.07	1.39±0.06	1.36±0.05	1.33±0.04	1.33±0.06	0.710
蛋黄颜色 Yolk color	5.58±1.17[ab]	5.96±1.40[ab]	6.47±1.50[b]	6.00±1.22[ab]	5.32±1.25[a]	6.18±1.56[ab]	6.23±1.45[ab]	0.995
蛋壳强度 Egg shell strength/（kg/m^2）	2.59±0.62[a]	3.04±0.70[bc]	2.95±0.54[abc]	3.18±0.63[c]	3.17±0.50[c]	3.00±0.71[abc]	2.92±0.75[abc]	0.966
蛋壳厚度 Egg shell thickness/mm	0.355±0.028	0.335±0.106	0.366±0.030	0.374±0.029	0.351±0.081	0.379±0.023	0.364±0.030	0.942

硒 Selenium/(μg/kg)	2.874±0.096^{Aa}	3.753±0.086^{Bb}	3.686±0.147^{Bb}	5.030±0.075^{Cc}	4.898±0.068^{Cc}	5.914±0.075^{Dd}	5.960±0.082^{Dd}	0.265
胆固醇 Cholesterol/(mg/g)	13.37±0.57^{Aa}	12.90±0.19^{ABCab}	12.37±0.70^{BCbc}	13.17±0.17^{ABa}	12.16±0.63^{Cc}	12.71±0.43^{ABCabc}	12.90±0.69^{ABCab}	0.474
甘油三酯 Triglyceride/(mg/g)	219.58±13.00^{Aa}	210.59±11.64^{ABabc}	201.57±5.49^{Bc}	212.92±11.45^{ABab}	202.12±12.04^{Bbc}	213.05±4.84^{ABab}	203.50±4.73^{Bbc}	0.993

2.3　酵母硒和苜草素联用对产蛋后期蛋鸡血浆和肝脏抗氧化能力的影响

由表 6 可知，试验组蛋鸡血浆和肝脏 GSH-Px 活性极显著高于对照组（$P<0.01$）；试验组蛋鸡血浆 T-SOD 活性极显著高于对照组（$P<0.01$）；除 2 组和 3 组蛋鸡血浆 T-AOC 与对照组差异不显著（$P>0.05$）外，其余各试验组蛋鸡血浆 T-AOC 均极显著高于对照组（$P<0.01$）；2 组和 4 组蛋鸡血浆 MDA 含量显著低于对照组（$P<0.05$），5 组蛋鸡血浆 MDA 含量极显著低于对照组（$P<0.01$）。酵母硒和苜草素互作可极显著蛋鸡提高血浆和肝脏 GSH-Px 活性及血浆 T-SOD 活性（$P<0.01$），而对蛋鸡血浆 T-AOC 和 MDA 含量无显著影响（$P>0.05$）。

2.4　酵母硒和苜草素联用对产蛋后期蛋鸡脂代谢的影响

由表 6 可知，试验组蛋鸡血浆胆固醇含量有降低的趋势，但差异不显著（$P>0.05$）；试验组蛋鸡肝脏胆固醇、甘油三酯含量均低于对照组，其中 5 组、6 组和 7 组蛋鸡肝脏胆固醇与对照组相比差异极显著（$P<0.01$），试验组蛋鸡肝脏甘油三酯含量与对照组差异极显著（$P<0.01$）。酵母硒和苜草素互作对蛋鸡肝脏胆固醇含量影响显著（$P<0.05$），对蛋鸡肝脏甘油三酯含量影响极显著（$P<0.01$）。

表 6　酵母硒和苜草素联用对产蛋后期蛋鸡血浆和肝脏抗氧化能力以及脂代谢的影响

Table 6　Effect of combination of selenium yeast and polysavone on plasma and liver antioxidant ability and lipid metabolism of hens during late period of laying

项目 Items		组别 Groups							*P* 值（酵母硒×苜草素）*P*-value (selenium yeast×polysavone)
		1	2	3	4	5	6	7	
血浆 Plasma	谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-Px/（U/mL）	79.62±1.94^{Aa}	91.16±2.31^{Bb}	97.06±5.43^{Cc}	96.98±1.90^{Cc}	110.97±2.26^{Dd}	91.17±1.85^{Bb}	97.35±1.69^{Cc}	0.009
	总抗氧化能力 T-AOC/（U/mL）	17.07±0.33^{Aa}	18.02±0.49^{Aab}	18.11±0.50^{Aab}	20.21±1.09^{BCc}	21.30±0.34^{Cd}	18.79±0.70^{Bb}	19.96±1.26^{BCc}	0.628
	总超氧化物歧化酶 T-SOD/（U/mL）	117.66±1.55^{Aa}	145.90±1.00^{Bb}	156.23±0.55^{Cc}	156.74±0.96^{Cc}	165.23±1.79^{Dd}	146.74±1.01^{Bb}	156.39±1.38^{Cc}	<0.001
	丙二醛 MDA(nmol/mL)	5.92±0.612^{Aa}	3.80±0.63^{ABb}	3.95±1.09^{ABab}	3.86±0.79^{ABb}	2.74±0.56^{Bb}	4.31±1.094^{ABab}	4.28±1.51^{ABab}	0.137
	胆固醇 Cholesterol/（mmol/L）	3.16±0.06	3.02±0.08	3.00±0.23	3.15±0.21	3.04±0.12	3.03±0.25	2.97±0.13	0.191
	甘油三酯 Triglyceride/（mmol/L）	16.64±1.59	16.81±2.54	17.92±1.45	17.65±1.88	16.79±1.46	16.94±1.85	17.91±2.82	0.980
肝脏 Liver	谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-Px（U/mL）	9.67±0.47^{Aa}	14.55±0.66^{Bb}	15.94±0.26^{BCDc}	16.70±0.88^{DEd}	20.19±1.35^{Ff}	15.02±0.95^{BCb}	17.54±0.47^{Ee}	0.002
	胆固醇 Cholesterol/（mg/g）	11.86±0.49^{Aa}	9.50±0.73^{ABb}	11.54±3.73^{Aa}	10.13±1.59^{Aab}	6.42±0.54^{Cc}	9.43±0.68^{Bb}	7.22±0.75^{BCc}	0.036
	甘油三酯 Triglyceride/（mg/g）	26.74±0.55^{Aa}	21.68±1.4^{Bb}	17.84±0.74^{DEd}	21.80±0.59^{Bb}	17.53±0.76^{Ed}	18.85±0.53^{CDc}	19.45±0.45^{Cc}	<0.001

2.5 酵母硒和苜草素联用对产蛋后期蛋鸡肝脏抗氧化、脂代谢相关基因 mRNA 表达量的影响

由表 7 可知，饲粮添加酵母硒和苜草素可极显著提高蛋鸡肝脏 *TrxR*1、*CYP7A*1 和 *SREBP*-1*c* mRNA 表达量（$P<0.01$）；显著提高蛋鸡肝脏 *GSH-Px1* mRNA 表达量（$P<0.05$），且随着酵母硒添加水平的提高其表达量极显著降低（$P<0.01$）；同时，也极显著降低蛋鸡肝脏 *HMGCR* mRNA 表达量（$P<0.01$），以 5 组最低且显著低于 7 组（$P<0.05$）。

表 7 酵母硒和苜草素联用对产蛋后期蛋鸡肝脏抗氧化、脂代谢相关基因 mRNA 表达量的影响

Table 7 Effect of combination of selenium yeast and polysavone on mRNA expression levels of antioxidant and lipid metabolism related genes in liver of hens during late period of laying

项目 Items	组别 Groups		
	1	5	7
谷胱甘肽过氧化物酶 1 *GSH-Px*1	1.00±0.16^{Aa}	4.54±0.50^{Bc}	2.03±0.41^{Ab}
硫氧还蛋白还原酶 1 *TrxR*1	1.00±0.16^{Aa}	6.39±0.20^{Cc}	2.59±0.30^{Bb}
胆固醇 7α–羟化酶 *CYP7A*1	1.00±0.27^{Aa}	3.01±0.31^{Cc}	2.47±0.38^{Bb}
固醇调节元件结合蛋白－1c *SREBP*-1*c*	1.00±0.11^{Aa}	6.46±0.39^{Cc}	3.48±0.46^{Bb}
3–羟基－3–甲基戊二酸单酰辅酶 A 还原酶 *HMGCR*	1.00±0.09^{Aa}	0.38±0.03^{Bc}	0.46±0.02^{Bb}

3 讨 论

3.1 酵母硒和苜草素联用对产蛋后期蛋鸡生产性能的影响

朱明等[15]和 Pavlović等[16]研究表明，有机硒可提高蛋鸡产蛋率和日产蛋量，降低料蛋比。杨玉等[14]和谢泰华[17]研究表明，苜草素可显著提高蛋鸡产蛋率，降低料蛋比。关于酵母硒和苜草素联用对生产性能的影响，相应的研究较少。本试验结果表明，酵母硒和苜草素联用显著提高了蛋鸡产蛋率，显著降低了料蛋比，并且延缓了 71 周龄以后蛋鸡产蛋率下降的趋势，效果比单一添加酵母硒或苜草素要好[14]。这说明酵母硒和苜草素联用可改善机体的代谢水平，且二者具有协同作用。

3.2 酵母硒和苜草素联用对产蛋后期蛋鸡蛋品质的影响

评价蛋品质的常规指标包括蛋壳厚度、蛋壳强度、蛋形指数、蛋白高度、哈氏单位和蛋黄颜色等。蛋壳强度和蛋壳厚度直接影响鸡蛋抗破损能力，蛋白高度和哈氏单位直接反映鸡

蛋新鲜程度。蛋白高度数值越大、哈氏单位越高，则表示蛋白品质优秀，蛋白粘稠度较好。蛋黄颜色主要与蛋鸡摄取类胡萝卜素种类和数量有关。

郭云霞等[18]研究表明，在夏季蛋鸡养殖过程中添加酵母硒，对提高蛋品质有很大帮助，其中蛋壳厚度、蛋白高度和哈氏单位均显著提高。而 Pavlović等[16]研究表明，饲粮中添加酵母硒对蛋壳品质、蛋壳厚度、蛋壳强度和蛋形指数无显著影响。苜草素可显著提高蛋壳强度，蛋壳厚度几乎不受影响[17]；苜蓿皂苷对常规蛋品质无显著影响[19]。

本试验中，酵母硒和苜草素联用有提高鸡蛋蛋白高度和哈氏单位的趋势，当添加量到 0.6 mg/kg 酵母硒和 500 mg/kg 苜草素时，哈氏单位与对照组相比差异显著，这说明添加这 2 种添加剂后，体内抗氧化作用增强，鸡蛋品质得到改善。本试验中，蛋壳强度均有不同程度增强，但蛋壳厚度变化无规律，原因可能是酵母硒和苜草素中的活性物质，如酵母、皂苷等，影响了蛋鸡体内钙、磷吸收率，从而导致蛋壳密度增大，强度增强，这与 Invernizzi 等[20]结果一致。

3.3 酵母硒和苜草素联用对产蛋后期蛋鸡血浆和肝脏抗氧化能力的影响

机体抗氧化功能主要是通过一系列反应清除体内脂质过氧化产物（如 MDA、氢过氧化物和过氧化氢等），使机体免受这些自由基损伤的过程。体内 GSH-Px、T-SOD、T-AOC、MDA、硫氧还蛋白还原酶（TrxR）等指标均反映机体抗氧化能力。Jing 等[10]研究表明，饲粮中添加硒源可提高蛋鸡血浆 GSH-Px 和 T-SOD 活性，显著降低血浆 MDA 含量。Lu 等[21]研究表明，机体补充硒源可增加硫氧还蛋白 1 和硫氧还蛋白 2 蛋白表达量。史莹华等[11]研究发现，饲粮中添加苜蓿皂苷可提高仔猪血清和肝脏等组织中 GSH-Px 和 T-SOD 活性，降低 MDA 含量。

本试验中，酵母硒和苜草素互作极显著提高了蛋鸡血浆 GSH-Px、T-SOD 活性以及肝脏 GSH-Px 活性，降低血浆 MDA 含量，这与上述研究结论相符；且肝脏中 *GSH-Px*1 和 *TrxR*1 mRNA 表达量也表现出与血浆一致的规律性，这说明酵母硒和苜草素可在基因转录水平上影响 *GSH-Px* 和 *TrxR* 的表达，协同提高机体抗氧化酶活性，最终增强机体抗氧化能力。

3.4 酵母硒和苜草素联用对产蛋后期蛋鸡血浆、肝脏、蛋黄胆固醇和甘油三酯含量的影响

肝脏是机体内脂代谢活动的重要器官，胆固醇在肝脏中转化为胆汁酸是体内胆固醇代谢的重要途径。机体内胆固醇代谢由一系列酶参与调控，其中 Cyp7a1 是胆汁酸合成的限速酶，对维持机体胆固醇稳定具有重要作用。*SREBP*-1*c* 基因属于固醇调节元件结合蛋白家族，可促进脂肪酸生成并与胆固醇合成胆固醇酯，从而消耗胆固醇[22]。*HMGCR* 是内源胆固醇合成过程中的限速酶[23-24]。研究表明，饲粮中添加硒源对蛋鸡血液胆固醇和甘油三酯含量影响不

显著[25]，添加苜草素可降低机体血液、肝脏胆固醇和甘油三酯含量以及鸡蛋中胆固醇的沉积量[12]。Zhou 等[13]进一步利用数字基因表达分析了苜蓿皂苷提取物降低蛋鸡胆固醇的效果，认为苜蓿皂苷降低胆固醇的作用是由肝脏中的胆固醇流出，降低卵巢中胆固醇的沉积。本试验中，酵母硒和苜草素互作不仅显著降低了蛋鸡肝脏胆固醇和甘油三酯的含量，而且蛋黄中的胆固醇和甘油三酯含量也随之下降，这与上述研究结果一致。同时本研究发现，添加酵母硒和苜草素极显著提高了肝脏中 *CYP7A*1 和 *SREBP*-1*c* mRNA 表达量，极显著降低了 *HMGCR* mRNA 表达量，原因可能是 *HMGCR* mRNA 表达量的降低直接影响了机体内胆固醇的合成；*SREBP*-1*c* mRNA 表达量的升高促进了脂肪酸合成相关酶基因的转录翻译，加速了脂肪酸的生成，从而与游离的胆固醇结合生成胆固醇酯，从而降低了胆固醇[22]；*CYP7A*1 mRNA 表达量的升高，加快了肝脏胆固醇向胆汁酸转变，进而降低了卵巢中胆固醇沉积[13]。由此可见，酵母硒和苜草素联用既影响了机体内胆固醇的合成，又影响着胆固醇代谢，从而降低了肝脏和蛋黄中胆固醇和甘油三酯含量。

3.5　酵母硒和苜草素联用对产蛋后期蛋鸡蛋黄硒含量的影响

现有试验表明，鸡蛋中硒含量可随饲粮中添加硒源水平的升高而升高，其中有机硒效果优于无机硒[26-27]。而关于苜草素和酵母硒对蛋硒含量的影响研究较少，且普遍认为苜草素影响机体对微量元素的吸收代谢，主要是通过消化道的代谢促进机体对微量元素（硒、锌、锰等）的吸收。本试验发现，饲粮中添加酵母硒和苜草素，蛋黄硒含量极显著高于对照组，且随酵母硒和苜草素添加量的增加，蛋黄硒含量并未趋于平缓或降低。虽然添加 1.0 mg/kg 酵母硒和 500、1 000 mg/kg 苜草素组合与 0.6 mg/kg 酵母硒和 1 000 mg/kg 苜草素组合相比，肝脏抗氧化性能及表达量极显著降低，但肝脏中抗氧化指标、*GSH-Px*1 和 *TrxR1* mRNA 的表达量仍极显著高于对照组，说明硒添加水平并未超出蛋鸡机体对硒的耐受力，但以添加 0.6 mg/kg 酵母硒和 1 000 mg/kg 苜草素组合效果较好。

4　结　论

产蛋后期蛋鸡饲粮中添加酵母硒和苜草素可有效提高蛋黄硒含量、降低蛋黄胆固醇和甘油三酯含量，改善蛋壳强度，提高生产性能、机体抗氧化和胆固醇代谢能力，有提高鸡蛋蛋白高度和哈氏单位趋势，以添加 0.6 mg/kg 酵母硒和 1 000 mg/kg 苜草素组合效果最佳。

参考文献

[1]　王宝维,王娜,葛文华,等.不同硒源对鹅早期生产性能、屠宰性能、肉品质、肌肉常规养分、免疫与抗氧化功能的影响[J].中国农业科学,2011,44(14):3016–3026.

[2]　WANG Y X,ZHAN X A,YUAN D,et al.Influence of dietary selenomethionine

supplementation on performance and selenium status of broiler breeders and their subsequent progeny[J].Biological Trace Element Research,2011,143(3):1497–1507.

[3] YUAN D,ZHAN X A,WANG Y X.Effects of selenium sources and levels on reproductive performance and selenium retention in broiler breeder,egg,developing embryo,and 1-day-old chick[J].Biological Trace Element Research,2011,144(1/2/3):705–714.

[4] CHEN G,WU J,LI C.Effect of different selenium sources on production performance and biochemical parameters of broilers[J].Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition,2014,98(4):747–754,doi:10.1111/jpn.12136.

[5] PILARCZYK B,JANKOWIAK D,TOMZA-MARCINIAK A,et al.Selenium concentration and glutathione peroxidase (GSH-Px) activity in serum of cows at different stages of lactation[J].Biological Trace Element Research,2012,147(1/2/3):91–96.

[6] ANUT C,ORAWAN C,PIYANETE C.Effect of sodium selenite and Zinc-*L*-selenomethionine on performance and selenium concentrations in eggs of laying hens[J].Asian-Australasian Journal of Animal Science,2008,21(7):1048–1052.

[7] ATTIA Y A,ABDALAH A A,ZEWEIL H S,et al.Effect of inorganic or organic selenium supplementation on productive performance,egg quality and some physiological traits of dual-purpose breeding hens[J].Czech Journal of Animal Science,2010,55(11):505–519.

[8] SHI L G,XUN W J,YUE W B,et al.Effect of sodium selenite,Se-yeast and nano-elemental selenium on growth performance,Se concentration and antioxidant status in growing male goats[J].Small Ruminant Research,2011,96(1):49–52.

[9] 孙庆艳,武书庚,张海军,等.饲粮中添加不同硒源对产蛋鸡生产性能和抗氧化能力的影响[J].动物营养学报,2016,28(4):1177–1185.

[10] JING C L,DONG X F,WANG Z M,et al.Comparative study of *DL*-selenomethionine vs. sodium selenite and seleno-yeast on antioxidant activity and selenium status in laying hens[J].Poultry Science,2015,94(5):965–975.

[11] 史莹华,王成章,徐兵,等.苜蓿皂甙对断奶仔猪生长性能和抗氧化性能的影响[J].草地学报,2010,18(5):735–739.

[12] DENG W,DONG X F,TONG J M,et al. Effects of an aqueous alfalfa extract on production performance,egg quality and lipid metabolism of laying hens[J].Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition,2012,96(1):85–94.

[13] ZHOU L,SHI Y H,GUO R,et al.Digital gene-expression profiling analysis of the cholesterol-lowering effects of alfalfa saponin extract on laying hens[J].PLoS One,2014,9(6):e98578.

[14] 杨玉,孙煜,孙宝盛,等.苜草素对产蛋后期蛋鸡抗氧化能力、脂质代谢及相关基因表达的影响[J].动物营养学报,2017,29(4):1233–1240.

[15] 朱明,杨凌,孙久健,等.硒对蛋鸡生产性能与鸡蛋硒含量的影响[J].上海畜牧兽医通讯,2013(2):46.

[16] PAVLOVIĆ Z,MILETIĆ I,JOKIĆ Ž,et al.The effect of dietary selenium source and level on hen production and egg selenium concentration[J].Biological Trace Element Research,2009,131(3):263–270.

[17] 谢泰华.苜草素对蛋鸡生产性能、蛋品质和血脂指标的影响[D].硕士学位论文.福州:福建农林大学,2009.

[18] 郭云霞,黄仁录,郝庆红,等.夏季日粮中添加酵母硒对柴鸡生产性能及蛋中硒沉积的影响.[J]河北农业大学学报,2006,29(2):96–99.

[19] 刘婷,潘俊良,王腾飞,等.苜蓿皂甙对蛋品质及胆固醇含量的影响[J].草地学报,2017,25(3):618–624.

[20] INVERNIZZI G,AGAZZI A,FERRONI M,et al.Effects of inclusion of selenium-enriched yeast in the diet of laying hens on performance,eggshell quality,and selenium tissue deposition[J].Italian Journal of Animal Science,2013,12(1):el.

[21] LU J,HOLMGREN A.Selenoproteins[J].Journal of Biological Chemistry,2009,284(2):723–727.

[22] 魏宁波,刘红云,汪海峰,等.固醇调控元件结合蛋白在胆固醇代谢中作用机制的研究进展[J].中国畜牧杂志,2013,49(5):80–84.

[23] BJARNADOTTIR O,ROMERO R,BENDAHL P Q,et al.Targeting HMG-CoA reductase with statins in a window-of-opportunity breast cancer trial[J].Breast Cancer Research and Treatment,2013,138(2):449–508.

[24] YEGANEH B,WIECHEC E,ANDE S R,et al.Targeting the mevalonate cascade as a new therapeutic approach in heart disease,cancer and pulmonary disease[J].Pharmacology & Therapeutics,2014,143(3):87–110.

[25] 王泽明.不同硒源对蛋鸡生产性能、蛋品质及血液生化指标的影响[D].硕士学位论文.

北京:中国农业科学院,2013.

[26] PAPPAS A C,KARADAS F,SURAI P F,et al.The selenium intake of the female chicken influences the selenium status of her progeny[J].Comparative Biochemistry and Physiology Part B:Biochemistry and Molecular Biology,2005,142(4):465–474.

[27] DELEZIE E,ROVERS M,VAN DER AA A,et al.Comparing responses to different selenium sources and dosages in laying hens[J].Poultry Science,2014,93(12):3083–3090.

Influence of selenium yeast and polysavone on egg quality,antioxidant ability,cholesterol metabolism in laying hens

YANG Yu, SUN Yu, SUN Baosheng , LU Yingjie，LI Jianhui

(College of Animal Science and Technology, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China)

Abstract:【Objective】This experiment was conducted to research the effect of dietary supplemented with selenium yeast and polysavone on production performance, antioxidant ability and lipid metabolism of laying hens. （Method）756 69-week old Hyline Brown hens were randomly allocated into 7 groups with 6 replicates of 18 hens for each replication. Hens in control group were feed with the basic dietary. Hens in other groups were feed with the diet supplemented at different levels of selenium yeast(0.2、0.6、1.0 mg/kg) and polysavone (500、1000 mg/kg）. The preliminary experiment was lasted for 2 weeks and the formal experiment lasted for 8 weeks. （Result）The results showed that the diet supplemented with selenium yeast and polysavone could significantly increase the laying rate, reduce the feed/egg ratio(P<0.05),improve the activity of GSH-Px and T-SOD in blood, GSH-Px in liver, and the expression of *GPX1* and *TR1* in liver （P<0.01）. The diet supplemented with the combination of selenium yeast and polysavone could very significantly reduce the content of triglyceride and the expression of *HMGCR*mRNA in liver, improve the mRNA expression of *Cyp7a1* and *SREBP-1c* in liver (P<0.01), and increase the content of selenium of yolk (P<0.01). The combination of selenium yeast (0.6 mg/kg) and polysavone (1000 mg/kg) could significantly increase T-AOC activity and reduce the MDA content in blood(P<0.01), decrease the content of cholesterol and triglyceride in yolk and total cholesterol in liver (P < 0.01) （Conclusion）It can be concluded that the diet supplemented with selenium yeast and polysavone could improve the production performance, antioxidant ability and

lipid metabolism of laying hens. The best addition level is 0.6mg/kg selenium yeast and 1000mg/kg polysavone.

Key words: Selenium yeast; Polysavone; Laying hens; Egg quality;Antioxidant ability; lipid metabolism;